

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ Off ni gungsschrift
⑩ DE 40 15 255 A 1

⑮ Int. Cl. 8:
C 07 C 233/47
C 07 C 323/59
A 61 K 31/195
C 07 D 207/16

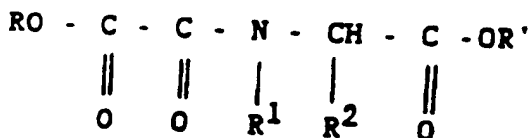
⑲ Aktenzeichen: P 40 15 255.3
⑳ Anmeldetag: 12. 5. 90
㉑ Offenlegungstag: 14. 11. 91

⑦1 Anmelder:
Hoechst AG, 6230 Frankfurt, DE

⑦2 Erfinder:
Baader, Ekkehard, Dr., 6240 Königstein, DE;
Burghard, Harald, Dr., 6384 Schmitten, DE;
Günzler-Pukall, Volkmar, Dr., 3550 Marburg, DE

⑤4 Oxalyl-aminosäurederivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihrer Verwendung als Arzneimittel zur Inhibierung der Prolyl-Hydroxylase

⑤7 Die Erfindung betrifft Oxalylaminosäurederivate der Formel I



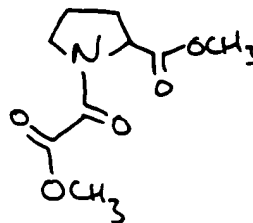
worin

R und R' gleich oder verschieden sind und C₁-C₈-Alkyl oder Wasserstoff bedeuten,

R¹ Wasserstoff oder C₁-C₄-Alkyl bedeutet,

R² Wasserstoff, C₁-C₈-Alkyl, C₁-C₃-Alkoxy, Carboxyl, C₁-C₈-Alkoxy-carbonyl, Aryl, SH, NH₂ oder Halogen bedeutet, wobei die Alkylreste unsubstituiert oder mit Aryl, OH, SH oder NH₂ substituiert sind oder

R¹ und R² zusammen eine C₂-C₈-Alkylkette darstellen sowie die Verbindungen in ihrer überwiegend reinen D- und L-Form sowie die physiologisch verträglichen Salze. Die Verbindungen zeichnen sich als ausgezeichnete Inhibitoren der Prolyl- und Lysin-Hydroxylase aus.



DE 40 15 255 A 1

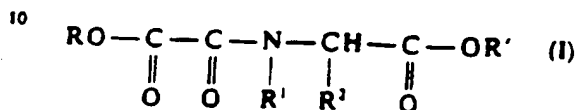
DE 40 15 255 A 1

Beschreibung

Oxalyl-aminosäurederivate, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung als Arzneimittel zur Inhibition der Prolyl-Hydroxylase.

- 5 Oxalyl-aminosäurederivate sind bekannt und beispielsweise beschrieben in FR-A 20 10 601, JP 43/10 614 oder Biochemistry, 27 (8), 2934—2943 (1988). Eine Verwendung dieser Verbindungen als Arzneimittel ist im Stand der Technik jedoch nicht beschrieben.

Es wurde nun gefunden, daß Oxalyl-aminosäurederivate der Formel I



15 worin

R und R' gleich oder verschieden sind und C₁—C₆-Alkyl oder Wasserstoff bedeuten.

R¹ Wasserstoff oder C₁—C₄-Alkyl bedeutet,

- 20 R² Wasserstoff, C₁—C₆-Alkyl, C₁—C₃-Alkoxy, Carboxyl, C₁—C₆-Alkoxycarbonyl, Aryl, SH, NH₂ oder Halogen bedeutet, wobei die Alkylreste unsubstituiert oder mit Aryl, OH, SH oder NH₂ substituiert sind oder R¹ und R² zusammen eine C₂—C₄-Alkylenkette darstellen sowie die Verbindungen in ihrer überwiegend reinen D- und L-Form sowie die physiologisch verträglichen Salze ausgezeichnete Inhibitoren der Prolin- und Lysin-Hydroxylase sind.

- 25 Die Erfindung betrifft somit die Verwendung der obengenannten Verbindungen als Arzneimittel, insbesondere als Arzneimittel zur Beeinflussung des Stoffwechsels von Kollagen und kollagenähnlichen Stoffen bzw. der Biosynthese von C1q.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung solcher Verbindungen der Formel I, in denen

- 30 R und R' gleich oder verschieden sind und C₁—C₃-Alkyl, Na oder K bedeuten, R¹ Wasserstoff, Methyl oder Ethyl bedeutet,

R² Wasserstoff oder C₁—C₄-Alkyl bedeutet, wobei der Alkylrest unsubstituiert oder mit Phenyl oder SH substituiert ist oder

R¹ und R² zusammen eine C₂- oder C₃-Alkylenkette bilden.

35

Ganz besonders bevorzugt ist die Verwendung von Verbindungen der Formel I, in denen

R und R' gleich sind und Methyl, Ethyl, Na oder K bedeuten,

R¹ Wasserstoff oder Methyl bedeutet,

- 40 R² Wasserstoff, C₁—C₃-Alkyl, Benzyl oder Thiomethyl bedeutet, oder R¹ und R² zusammen eine Ethylenkette bilden.

Alkylketten mit 3 und mehr Kohlenstoffatomen können sowohl geradkettig als auch verzweigt sein. Unter Aryl werden aromatische Kohlenwasserstoffe verstanden, insbesondere Phenyl und Naphthyl. Unter Halogen werden Fluor, Chlor, Brom und Jod verstanden, insbesondere Chlor und Brom.

- 45 Die Herstellung von Verbindungen der Formel I ist bekannt und beispielsweise beschrieben in FR-A 20 10 601. Sie gelingt am einfachsten dadurch, daß man 1—3 Äquivalente Aminosäureester-Hydrohalogenid, bevorzugt Hydrochlorid und 1—5 Äquivalente einer Base wie z. B. Carbonat oder Hydrogencarbonat wie Natrium- oder Kaliumcarbonat oder Natrium- oder Kaliumhydrogencarbonat oder tertiäre Amine, wie Triäthylamin, Tributylamin, Äthylisopropylamin oder heterocyclische Amine wie N-Alkylmorpholin, Pyridin, Chinolin oder Dialkylaniline zusammen gibt.

- 50 Gegebenenfalls können auch mehrere Basen gleichzeitig eingesetzt werden. Die Reaktionstemperaturen liegen bei —30°C bis 150°C, bevorzugt bei 20°C bis 100°C. Gegebenenfalls kann auch in einem Lösungsmittel gearbeitet werden, wie Diäthyläther oder Dimethoxyäthan oder Tetrahydrofuran, chlorierten Kohlenwasserstoffen wie Methylchlorid, Chloroform, Tri- oder Tetrachloräthylen, Benzol, Toluol und auch polaren Lösungsmitteln wie Dimethylformamid, Aceton, Alkoholen wie Methanol oder Ethanol oder Dimethylsulfoxid. Anschließend werden bei Temperaturen zwischen —78°C und 100°C, bevorzugt zwischen —20°C und +20°C langsam 1—3 Äquivalente Oxalsäureesterchlorid zugegeben. Gegebenenfalls kann auch hier mit einem Lösungsmittel wie oben angegeben gearbeitet werden. Die Beendigung der Reaktion läßt sich beispielsweise 60 mittels Dünnschichtchromatographie bestimmen.

Gegebenenfalls kann die Aufarbeitung der Produkte beispielsweise durch Extraktion oder durch Chromatographie z. B. über Kieselgel erfolgen. Das isolierte Produkt kann umkristallisiert werden.

- Verbindungen der Formel I mit R und/oder R' = Alkali wie z. B. Na oder K können z. B. aus den entsprechenden Verbindungen der Formel I mit R und/oder R' = C₁—C₄-Alkoxy in alkalischem Medium zu den entsprechenden Salzen verseift werden, z. B. mit NaOH oder KOH in einem niedermolekularen Alkohol wie Methanol oder Äthanol oder in Äthern wie Dimethoxyäthan oder Tetrahydrofuran, gegebenenfalls in Gegenwart von Wasser. In den erhaltenen Salzen läßt sich das Alkali nach Ansäuern in 1:1 mit einem Kationenaustausch 65 weis gegen beliebige Kationen austauschen. Dazu läßt man z. B. die Säuren durch eine mit einem Kationenaus-

tauscher, wie z. B. auf Basis Polystyrol/Divinylbenzol (®Amerlite CG-150 oder ®Dowex-CCR-2) gefüllte Säule laufen. Der Kationenaustauscher ist mit dem gewünschten Kation beladen, z. B. mit Ammoniumionen, die sich in einem primären, sekundären oder tertiären Amin ableiten. Das gewünschte Salz erhält man durch Eindampfen des Eluats.

Ammoniumsalze der Säuren, die sich von einem primären, sekundären oder tertiären Amin ableiten, kann man auch herstellen, indem man die freien Säuren in einer alkoholischen Lösung mit einer äquimolaren Menge des entsprechendenamins versetzt und das Lösungsmittel eindampft.

Die Herstellung der überwiegend enantiomerenreinen D- oder L-Verbindungen aus den Racematen erfolgt ebenfalls nach literaturbekannten Verfahren, beispielsweise durch fraktionierte Kristallisation oder durch enzymatische Aufarbeitung. Eine andere Möglichkeit besteht in der Direktsynthese der enantiomerenreinen Verbindung aus entsprechenden D- oder L-Vorstufen (Ausgangsverbindungen).

Die erfindungsgemäßen Substanzen sind als reversible Hemmstoffe der Prolylhydroxylase wirksam. Infolgedessen bewirken sie eine selektive Hemmung der kollagenspezifischen Hydroxylierungsreaktion, in deren Verlauf proteingebundenes Prolin durch das Enzym Prolylhydroxylase hydroxyliert wird. Bei Unterbindung dieser Reaktion mittels eines Inhibitors entsteht ein nichtfunktionsfähiges, unterhydroxyliertes Kollagenmolekül, das von der Zelle nur in geringer Menge in den extrazellulären Raum abgegeben werden kann. Das unterhydroxylierte Kollagen kann außerdem nicht in die Kollagenmatrix eingebaut werden und wird sehr leicht proteolytisch abgebaut. Als Folge dieser Effekte verringert sich insgesamt die Menge des extrazellulär abgelagerten Kollagens. Inhibitoren der Prolylhydroxylase sind deshalb geeignete Werkzeuge in der Therapie von Erkrankungen, in denen die Ablagerung von Kollagenen maßgeblich zum Krankheitsbild beiträgt. Hierzu gehören u.a. Fibrosen der Lunge, Leber und Haut (Skleroderma) sowie die Atherosklerose.

Außerdem ist bekannt, daß die Inhibierung der Prolylhydroxylase durch bekannte Inhibitoren wie α,α -Dipyridyl zu einer Hemmung der Clq-Biosynthese von Makrophagen führt (W. Müller et al., FEBS Lett. 90, 218 f. (1978)). Dadurch kommt es zu einem Ausfall des klassischen Weges der Komplementaktivierung: Inhibitoren der Prolylhydroxylase wirken daher auch als Immunsuppressiva, z. B. bei Immunkomplexeerkrankungen.

Die erfindungsgemäßen Substanzen können daher als Fibrosuppressiva, Immunsuppressiva und Antiatherosklerotika eingesetzt werden.

Die antifibrotische Wirkung kann im Modell der Tetrachlorkohlenstoff-induzierten Leberfibrose bestimmt werden. Dazu werden Ratten mit CCl_4 (1 ml/kg) — gelöst in Olivenöl — zweimal wöchentlich behandelt. Die Prüfsubstanz wird täglich, gegebenenfalls sogar zweimal täglich per os oder intraperitoneal — gelöst in einem geeigneten verträglichen Lösungsmittel — verabreicht. Das Ausmaß der Leberfibrose wird histologisch bestimmt und der Anteil Kollagen in der Leber per Hydroxyprolinbestimmung — wie bei Kivirikko et al. (Anal. Biochem. 19, 249 f. (1967)) beschrieben — analysiert. Die Aktivität der Fibrogenese kann durch radioimmunologische Bestimmung von Kollagenfragmenten und Prokollagenpeptiden im Serum bestimmt werden. Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind in diesem Modell in Konzentration von 1–100 mg/kg wirksam. Ein anderes Modell zur Evaluierung der antibiotischen Wirkung ist das der Bleomycin-induzierten Lungenfibrose wie bei Kelley et al. (J. Lab. Clin. Med. 96, 954, (1980)) beschrieben. Für die Evaluierung der Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Granulationsgewebe kann das Modell des Wattlebauschgranuloms, wie bei Meier et al., Experimentia 6, 469 (1950) beschrieben, herangezogen werden.

Im folgenden ist die Erfindung anhand von Beispielen näher erläutert.

Beispiele

Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen aus den Beispielen 1–6

Ein Äquivalent Aminosäureester-Hydrochlorid, zwei Äquivalente Triethylamin und 2 Äquivalente N,N-Dimethylaminopyridin werden bei Raumtemperatur unter Stickstoff-Atmosphäre in Methylenchlorid vorgelegt. Dann werden bei 0°C – 10°C langsam ein Äquivalent Oxalsäureesterchlorid in Methylenchlorid gelöst zugeversetzt und extrahiert. Die organische Phase wird abgetrennt, mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wird chromatographiert.

Beispiel 1

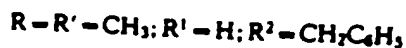
(N-Oxalyl)-L-alanindimethylester



5 g L-Alaninmethylester-Hydrochlorid und 3,3 ml Oxalsäuremethylesterchlorid ergeben 6 g Beispiel 1 als Öl (Chrom.: EE/ CH_3OH 5/1).

Beispiel 2

(N-Oxalyl)-L-phenylalanindimethylester



5 g L-Phenylalaninmethylester-Hydrochlorid und 2,2 ml Oxalsäuremethylesterchlorid ergeben 6,5 g Beispiel 2

als Öl (Chrom.: EE/CH₃OH 5/1).

Beispiel 3

(N-Oxalyl)-L-glycindimethylester



15 g L-Glycinmethylester-Hydrochlorid und 11 ml Oxalsäuremonomethylesterchlorid ergeben 23 g Beispiel 3;
Fp. 49°C; (Chrom.: EE).

Beispiel 4

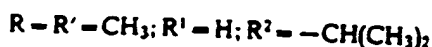
(N-Oxalyl)-L-prolindimethylester



2 g L-Prolinmethylester-Hydrochlorid und 2,9 g Oxalsäuremonomethylesterchlorid ergeben 1,5 g als Öl
(Chrom.: EE).

Beispiel 5

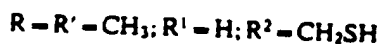
(N-Oxalyl)-L-valindimethylester



2 g L-Valinmethylester-Hydrochlorid und 2,8 g Oxalsäuremonomethylesterchlorid ergeben 2 g als Öl (Chrom.:
CH/EE 1/1).

Beispiel 6

(N-Oxalyl)-L-cysteindimethylester



2 g L-Cysteinmethylester-Hydrochlorid und 3,9 g Oxalsäuremonomethylesterchlorid ergeben 1,5 g als Öl
(Chrom.: CH/EE 1/1).

Beispiel 7

(N-Oxalyl)-sarcosindiethylester



2 g Sarcosin-ethylester-hydrochlorid in 50 ml Ethanol vorlegen und bei Raumtemperatur eine Lösung aus
3,5 ml (2 Äquivalenten) Oxalsäurediethylester und 1,8 ml Triethylamin in 25 ml Ethanol zutropfen. Für 5 Stunden
bei 50°C rühren, dann für 2 Stunden zum Rückfluß erhitzen. Die Lösung wird abgekühlt und zur Trockne
eingedampft. Den Rückstand mit Methylenchlorid aufnehmen, einmal mit Wasser waschen, die organische Phase
über Magnesiumsulfat trocknen und eindampfen.

Das Rohprodukt wird chromatographiert (EE/CH 1/1)
Ausbeute: 0,35 g.

Allgemeine Vorschrift zur Herstellung der Verbindungen aus Beispiel 8 — 14

Ein Äquivalent der Verbindung aus den Beispielen 1 — 7 wird bei Raumtemperatur mit 2 Äquivalenten 0,1 N
alkoholischer Alkalilauge gelöst. Es wird 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und zur Trockne eingedampft.
Der Rückstand wird zweimal mit Toluol abgeraucht, mehrmals mit Pentan gewaschen und im Hochvakuum
getrocknet.

Beispiel 8

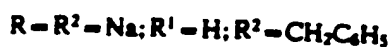
(N-Oxalyl)-L-alanindikaliumsalz



300 mg der Verbindung aus Beispiel 1 werden mit 32,5 ml 0,1 N ethanolischer Kalilauge umgesetzt.
Ausbeute: 370 mg weiße Kristalle, Fp.: > 300°C.

Beispiel 9

(N-Oxalyl)-L-phenylalanindinatriumsalz

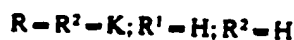


420 mg der Verbindung aus Beispiel 2 werden mit 32,5 ml 0,1 N methanolischer Natronlauge umgesetzt.
Ausbeute: 440 mg weiße Kristalle, Fp. > 300°C.

5

Beispiel 10

(N-Oxalyl)-L-glycindikaliumsalz



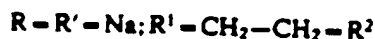
5,5 g der Verbindung aus Beispiel 3 werden mit 314 ml 0,1 N methanolischer Kalilauge umgesetzt.
Ausbeute: 5,4 g weiße Kristalle, Fp. > 300°C.

10

15

Beispiel 11

(N-Oxalyl)-L-prolindinatriumsalz



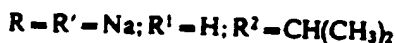
300 mg der Verbindung aus Beispiel 4 werden mit 1,5 ml 0,1 N ethanolischer Natronlauge umgesetzt.
Ausbeute: 290 mg weiße Kristalle, Fp. > 300°C.

20

25

Beispiel 12

(N-Oxalyl)-L-valindinatriumsalz



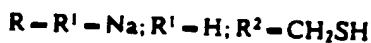
300 mg der Verbindung aus Beispiel 5 werden mit 14 ml 0,1 N ethanolischer Natronlauge umgesetzt.
Ausbeute: 235 mg weiße Kristalle, Fp.: > 300°C.

30

35

Beispiel 13

(N-Oxalyl)-L-cysteindinatriumsalz



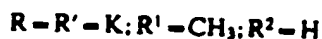
300 mg der Verbindung aus Beispiel 6 werden mit 13,7 ml 0,1 N methanolischer Natronlauge umgesetzt.
Ausbeute: 300 mg weiße Kristalle, Fp.: > 300°C.

40

45

Beispiel 14

(N-Oxalyl)-sarcosindikaliumsalz



120 mg der Verbindung aus Beispiel 7 werden mit 11,4 ml 0,1 N ethanolischer Kalilauge umgesetzt.
Ausbeute: 130 mg weiße Kristalle, Fp.: > 300°C.

50

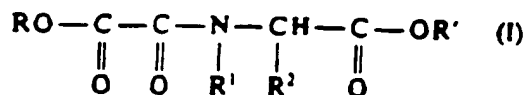
Nachfolgend sind die Verbindungen aus den Beispielen 1 – 14 tabellarisch aufgeführt (Tabelle 1).

55

60

65

Tabelle 1



Beispiel	R	R'	R ¹	R ²	Fp./Öl
1	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	Öl
2	CH ₃	CH ₃	H	CH ₂ C ₆ H ₅	Öl
3	CH ₃	CH ₃	H	H	49°C
4	CH ₃	CH ₃	CH ₂ ----	CH ₃	Öl
5	CH ₃	CH ₃	H	CH(CH ₃) ₂	Öl
6	CH ₃	CH ₃	H	CH ₂ SH	Öl
7	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	CH ₃	H	Öl
8	K	K	H	CH ₃	>300°C
9	Na	Na	H	CH ₂ C ₆ H ₅	>300°C
10	K	K	H	H	>300°C
11	Na	Na	CH ₂ ----	CH ₃	>300°C
12	Na	Na	H	CH(CH ₃) ₂	>300°C
13	Na	Na	H	CH ₂ SH	>300°C
14	K	K	CH ₃	H	>300°C

Die Hemmwirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen wurde in einem Enzymtest analog der Method von B. Peterkofsky und R. DiBlasio, Anal. Biochem. 66, 279—286 (1975) bestimmt. Dabei wird unterhydroxyliertes Kollagen mit Prolylhydroxylase in Gegenwart von Eisen(II)-Ionen, α-Ketoglutarat und Ascorbat enzymatisch hydroxyliert und diejenige Konzentration der zugesetzten erfindungsgemäßen Verbindung bestimmt, die zu einer 80%igen Hemmung der Enzymaktivität führt (der Wert wird als K₁ angegeben).

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse mit den Verbindungen aus den Beispielen 8 und 10 aufgeführt.

Tabelle 2 (Salze)

Verbindung	K ₁ [mM]
Beispiel 8	0,04
Beispiel 10	0,01

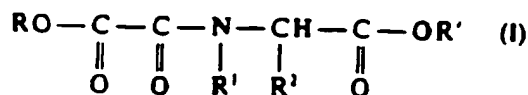
Die Hemmwirkung kann auch in der Zell- oder Gewebekultur bestimmt werden. Dazu können Fibroblasten oder andere Kollagen produzierende Zellen bzw. Calvarien oder andere Kollagen produzierende Organe eingesetzt werden. In Tabelle 3 ist die Hemmwirkung von erfindungsgemäßen Substanzen in der Calvarienkultur zusammengestellt. Angegeben ist die Konzentration, die zu einer 50%igen Absenkung des Hydroxyprolin/Prolin-Quotienten bei metabolischer Markierung mit ¹⁴C-Prolin führt (IC₅₀).

Tabelle 3 (Ester)

Verbindung	IC ₅₀ [mM]
Beispiel 1	0,35
Beispiel 3	0,002

Patentanspruch

1. Oxalyl-amin säurederivate der Formel I



worin

R und R' gleich oder verschieden sind und C₁—C₄-Alkyl oder Wasserstoff bedeuten,

R¹ Wasserstoff oder C₁—C₄-Alkyl bedeutet,

R² Wasserstoff, C₁—C₄-Alkyl, C₁—C₃-Alkoxy, Carboxyl, C₁—C₄-Alkoxy-carbonyl, Aryl, SH, NH₂ oder Halogen bedeutet, w bei die Alkylreste unsubstituiert oder mit Aryl, OH, SH oder NH₂ substituiert sind oder

R¹ und R² zusammen eine C₂—C₄-Alkylenkette darstellen

5

sowie die Verbindungen in ihrer überwiegend reinen D- und L-Form sowie die physiologisch verträglichen Salze zur Verwendung als Arzneimittel.

2. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 zur Verwendung als Arzneimittel, dadurch gekennzeichnet, daß

10

R und R' gleich oder verschieden sind und C₁—C₃-Alkyl, Na oder K bedeuten,

R¹ Wasserstoff, Methyl oder Ethyl bedeutet,

R² Wasserstoff oder C₁—C₄-Alkyl bedeutet, wobei der Alkylrest unsubstituiert oder mit Phenyl oder SH substituiert ist oder

R¹ und R² zusammen eine C₂- oder C₃-Alkylenkette bilden.

15

3. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 oder 2 zur Verwendung als Arzneimittel, dadurch gekennzeichnet, daß

R und R' gleich sind und Methyl, Ethyl, Na oder K bedeuten,

20

R¹ Wasserstoff oder Methyl bedeutet,

R² Wasserstoff, C₁—C₃-Alkyl, Benzyl oder Thiomethyl bedeutet, oder

R¹ und R² zusammen eine Ethylenkette bilden.

4. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Inhibierung der Enzyme Prolin- oder Lysinhydroxylase.

25

5. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Anwendung als Fibrosuppressiva und Immunsuppressiva.

6. Arzneimittel, enthaltend eine Verbindung der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 mit verträglichen pharmazeutischen Trägern.

30

7. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung von fibrosuppressiv und/oder immunsuppressiv wirkenden Arzneimitteln.

8. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Beeinflussung des Stoffwechsels von Kollagen und kollagenähnlichen Stoffen bzw. zur Biosynthese von Clq.

35

9. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 zur Behandlung von Störungen des Stoffwechsels von Kollagen und kollagenähnlichen Stoffen bzw. zur Biosynthese von Clq.

10. Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Beeinflussung des Stoffwechsels von Kollagen und kollagenähnlichen Stoffen bzw. der Biosynthese von Clq, dadurch gekennzeichnet, daß man dem Arzneimittel eine Verbindung der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3 hinzugibt.

40

45

50

55

60

65

-L ers ite-